Evaluation du risque d'infection à CMV du sujet transplanté rénal R+ selon l'immunité cellulaire analysée par le test QuantiFERON®-CMV

« QuantiC-R+ »

Code promoteur : I10 002

PROTOCOLE DE RECHERCHE NON INTERVENTIONNELLE

Version n°4 du 13 Mars 2013

Cette recherche a obtenu :
- le financement local de la DRCI du CHU de Limoges,
- le soutien de Cellectis (fourniture des tests QuantiFERON®-CMV),
- un soutien via les crédits régionaux attribués au Centre d'investigation clinique de Limoges

Gestionnaire:

CHU de LIMOGES
2 avenue Martin Luther King
87042 Limoges Cedex

Personne qui dirige et surveille la recherche :

Pr Sophie ALAIN
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène
Centre National de Référence
des Cytomégalovirus
CHU de Limoges
2 avenue Martin Luther King
87042 Limoges Cedex
Tel : 05 55 05 67 28 / 67 24
sophie.alain@unilim.fr

Personne en charge de la coordination clinique :

Pr Marie ESSIG
Service de Néphrologie

CHU de Limoges
2 Avenue Martin Luther King
87042 Limoges Cedex
Tel : 05 55 05 64 51
marie.essig@inserm.fr

Centre de Méthodologie et de Gestion des données :

Méthodologistes :
Dr B MARIN
Pr. P-M PREUX, méthodologistes

Datamanager :
M RAYMONDEAU
S LUCE

Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et Biostatistique
Facultés de médecine et de pharmacie
2 rue du Dr Marcland
87025 Limoges Cedex
Tel : 05 55 43 59 84
ufrcb@unilim.fr

Ce protocole a été conçu et rédigé à partir de la version 1.0 du 09/07/2010 du protocole-type de la DIRC Sud-Ouest Outre Mer

HISTORIQUE DES MISES A JOUR DU PROTOCOLE

VERSION	DATE	RAISON DE LA MISE A JOUR
1.1	30 mai 2010	Avis des experts du Conseil Scientifique de la DRC
1.2	22 novembre 2010	Trame « soins courants »
1.3	31 mars 2011	Trame « recherche observationnelle »
2	04 Avril 2012	Prise en compte des corrections du CCTIRS
3	16 Avril 2012	Prise en compte de l'avis du CPP SOOM IV
4	13 Mars 2013	Amendement n°1 : Suppression des visites optionnelles Ajout du schéma de l'étude

SOMMAIRE

PAGE DE SIGNATURE DU PROTOCOLE 5

1. RESUME DE LA RECHERCHE 7

2. JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE 10

2.1.1. Sur la pathologie 10
2.1.2. Sur les strategies de référence 10
2.1.3. Sur les strategies a l'étude 12
2.2. HYPOTHESES DE LA RECHERCHE 13
2.3. JUSTIFICATION DES CHOIX METHODOLOGIQUES 13
2.4. RAPPORT BENEFICE / RISQUE 13
2.5. RETOMBEES ATTENDUES 14

3. OBJECTIFS 15

3.1. OBJECTIF PRINCIPAL 15
3.2. OBJECTIFS SECONDAIRES 15

4. CONCEPTION DE LA RECHERCHE 15

5. CRITERES D'ÉLIGIBILITE 16

5.1. CRITERES D'INCLUSION 16
5.2. CRITERES DE NON INCLUSION 16
5.3. MODALITES D'IDENTIFICATION DES PARTICIPANTS 16

6. STRATEGIES/PROCEDURES DE LA RECHERCHE 17

7. CRITERES D'EVALUATION 19

7.1. CRITERE D'EVALUATION PRINCIPAL 19
7.2. CRITERES D'EVALUATION SECONDAIRES 19

8. DEROULEMENT DE LA RECHERCHE 20

8.1. CALENDRIER DE LA RECHERCHE 20
8.2. TABLEAU RECAPITULATIF DU SUIVI PARTICIPANT 20
8.3. VISITE DE PRE-INCLUSION 20
8.4. VISITE D'INCLUSION 21
8.5. VISITES DE SUIVI 21
8.6. VISITE DE FIN DE LA RECHERCHE 21
8.7. REGLES D'ARRET DE LA RECHERCHE 21
8.8. COLLECTION D'ECHANTILLONS BIOLOGIQUES 22

9. GESTION DES ÉVÉNEMENTS INDÉSIRABLES ET DES FAITS NOUVEAUX 23

10. ASPECTS STATISTIQUES 24

10.1. CALCUL DE LA TAILLE D'ETUDE 24
10.2. METHODES STATISTIQUES EMPLOYEES 24

11. DROITS D'ACCES AUX DONNEES ET DOCUMENTS SOURCE 26

11.1. ACCES AUX DONNEES 26
11.2. DONNEES SOURCES 26
11.3. CONFIDENTIALITE DES DONNEES 26

12. CONTROLE ET ASSURANCE DE LA QUALITE 27

12.1. CONSIGNES POUR LE RECUEIL DES DONNEES 27

12.2. SUIVI DE LA RECHERCHE 27
12.3. CONTROLE DE QUALITE 27
12.4. GESTION DES DONNEES 28
12.5. AUDIT ET INSPECTION 28

13. CONSIDERATIONS ETHIQUES ET REGLEMENTAIRES 29

13.1. CONFORMITE AUX TEXTES DE REFERENCE 29
13.2. AMENDEMENT AU PROTOCOLE 29

14. CONSERVATION DES DOCUMENTS ET DES DONNEES RELATIVES A LA RECHERCHE 30

15. REGLES RELATIVES A LA PUBLICATION 31

15.1. COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES 31
15.2. COMMUNICATION DES RESULTATS AUX PATIENTS 31
15.3. CESSION DES DONNEES 31

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 32

ANNEXE 1 : LISTE DES PROFESSIONNELS DE SANTE PARTICIPANT A LA RECHERCHE 35

ANNEXE 2 : NOTE D'INFORMATION 38

ANNEXE 3 : FORMULAIRE DE NON-OPPOSITION 41

ANNEXE 4 : SCHEMA DE L'ETUDE 42

ANNEXE 5 : PROTOCOLE DE REALISATION DE LA BIOTHEQUE (PLASMATHEQUE/SEROTHEQUE/CELLULOTHEQUE) 43

ANNEXE 6 : MODE D'EMPLOI DU QUANTIFERON CMV 45

PAGE DE SIGNATURE DU PROTOCOLE

« Evaluation du risque d'infection à CMV du sujet transplanté rénal R+ selon l'immunité cellulaire analysée par le test QuantiFERON®-CMV »

« QuantiC-R+ »

Code promoteur : I10 002

Version n°4 du 13 Mars 2013

Gestionnaire

CHU de LIMOGES
2 avenue Martin Luther King
87042 Limoges Cedex

à Limoges, le : *date*

Signature

Personne qui dirige et surveille la recherche

Pr Sophie ALAIN
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène
Centre National de Référence des Cytomégalovirus
CHU de Limoges
2 avenue Martin Luther King
87042 Limoges Cedex
Tel : 05 55 05 67 28 / 67 24
sophie.alain@unilim.fr

à Limoges, le : *date*

Pr Sophie ALAIN
Signature

LISTE DES ABREVIATIONS

CMV	CytoMégaloVirus
CTL	Cytotoxic T Lymphocytes
D±/R±	Donneur/Receveur CMV séropositif ou séronégatif
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
IMC	Immunité à Médiation Cellulaire
INFγ	Interferon gamma
UFRCB	Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et Biostatistique

1. RESUME DE LA RECHERCHE

GESTIONNAIRE	CHU de Limoges
PERSONNE QUI DIRIGE ET SURVEILLE LA RECHERCHE	Pr Sophie ALAIN Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène Centre National de Référence des Cytomégalovirus, CHU de Limoges, 2 avenue Martin Luther King 87042 Limoges Cedex Tel : 05 55 05 67 28/6724 sophie.alain@unilim.fr
TITRE	**Evaluation du risque d'infection à CMV du sujet transplanté rénal R+ selon l'immunité cellulaire analysée par le test QuantiFERON®-CMV** « QuantiC-R+ »
VERSION DU PROTOCOLE	Version 4 du 13 Mars 2013
JUSTIFICATION / CONTEXTE	L'infection à CMV est observée chez plus de 30% des receveurs d'organes avec une morbidité élevée. Par ailleurs, en l'absence de prophylaxie, 75% des transplantés D+ R-, 55%, D+R+ et 25% des D-R+ développent une infection à CMV. Le nombre de molécules antivirales disponibles est réduit et leurs effets secondaires notables (neutropénie, toxicité rénale) conduisent à un arrêt prématuré du traitement ou à l'utilisation de doses réduites qui favorisent la non réponse au traitement et l'émergence de résistance. En cas de neutropénie, il existe de plus un risque accru de rejet secondaire dû à la diminution du traitement immunosuppresseur rendu nécessaire par l'atteinte hématologique. Une utilisation raisonnée de ces molécules est donc nécessaire avec comme questions essentielles aujourd'hui la durée optimale de la prophylaxie primaire et celle du traitement prophylactique des rechutes en cas d'infection déclarée à CMV. L'immunité à médiation cellulaire est connue pour être plus importante que l'immunité humorale dans le contrôle de l'infection à CMV. Plusieurs travaux récents ont montré que la réponse T CD4+ et CD8+ spécifiques du CMV participe au contrôle de la réplication du CMV chez les receveurs. Il existe ainsi une corrélation entre la fréquence des cellules CD4+ et CD8+ spécifiques du CMV sécrétrices d'IFNγ et la protection contre une infection à CMV après transplantation De plus, la mesure individuelle de l'immunité à médiation cellulaire est un facteur prédictif du risque d'infection à CMV ou de maladie après la prophylaxie. Les patients qui présentent une faible immunité à médiation cellulaire pourraient ainsi bénéficier d'une durée de prophylaxie plus longue. Malheureusement les méthodes actuelles d'exploration de l'immunité cellulaire (ELISpot, cytométrie de flux, test tétramérique) sont complexes, non standardisées et doivent être réalisées immédiatement après le prélèvement. Le test QuantiFERON®-CMV est un test standardisé et rapide qui évalue l'immunité cellulaire spécifique du CMV en mesurant la quantité d'IFNγ sécrété dans le plasma par ELISA. Il utilise plusieurs épitopes de protéines du CMV incluant la gB, l'IE-1, la pp65 et la pp50, qui sont spécifiques des molécules HLA de classe I. Le prétraitement du prélèvement est simple et le plasma peut être conservé, congelé, pour un dosage différé de l'interféron. Trois études récentes ont validé son utilisation en transplantation d'organe solide mais ces études ont porté sur un petit nombre de patient, avec des types de transplantation divers et essentiellement sur des patients D+/R- où le traitement prophylactique d'une durée de 6 mois est maintenant admis. La prise en charge des sujets R+ est plus sujette à débat. Certains préconisent un

	traitement prophylactique de trois mois, ce d'autant plus que le patient a reçu une induction par anticorps antilymphocytaires déplétants. D'autres privilégient une approche pré-emptive où le traitement est débuté lorsqu'il existe des signes biologiques de réplication virale. Dans cette population R+, l'utilisation du test QuantiFERON®-CMV pour individualiser le traitement anti CMV paraît particulièrement séduisante. Cela pourrait éviter les infections sévères inhérentes à la stratégie pré-emptive et diminuer le risque neutropénique associé au maintien d'un traitement prophylactique non indispensable si l'immunité cellulaire est reconstituée. Les résultats de plusieurs publications ont récemment conduit à recommander l'utilisation de ce test en routine pour la surveillance des infections à CMV après transplantation. Le but de ce travail est donc d'analyser la capacité du test QuantiFERON®-CMV à prédire le risque d'infection à CMV chez le receveur R+. Ce travail sera effectué dans une population homogène de transplantés rénaux car le risque d'infection à CMV est différent selon les types de transplantation d'organe. Le risque d'infection à CMV étant considéré comme très élevé après induction par anticorps déplétants, ces patients seront exclus de l'étude initiale. Il est de plus probable que ces patients ont une reconstitution immune beaucoup plus tardive nécessitant un suivi à des temps différents de ceux des patients sans induction initiale ou avec une induction par anti R-IL2.
OBJECTIFS	**Principal :** • Estimer, chez le patient transplanté rénal R+, les valeurs prédictives de l'infection à CMV du test QuantiFERON®-CMV durant la première année de greffe. **Secondaires :** • Estimer, chez le patient transplanté rénal R+, la valeur prédictive du test QuantiFERON®-CMV de non réponse au traitement de l'infection à CMV durant la première année de greffe. • Estimer, chez le patient transplanté rénal R+, le rôle respectif des facteurs virologiques et immunologiques dans la non réponse au traitement de l'infection à CMV durant la première année de greffe.
SCHEMA DE LA RECHERCHE	Etude observationnelle descriptive longitudinale multicentrique nationale
CRITERES D'INCLUSION	➢ Sujet majeur ➢ Receveur de greffe rénale ➢ Immunisé contre le CMV (R+) ➢ Patients affiliés à un régime de sécurité sociale ➢ Non opposition à l'utilisation des données cliniques et biologiques
CRITERES DE NON INCLUSION	➢ Sujet receveur de greffe rénale dont le traitement d'induction comprend des anticorps antilymphocytaires ➢ Signes cliniques d'infection virale active ➢ Contre-indication à la transplantation
CRITERES D'EVALUATION	**Critère de jugement principal :** infection à CMV définie par une ADNémie positive confirmée sur un deuxième prélèvement idéalement à une semaine d'intervalle. **Critères de jugement secondaires :** La non-réponse au traitement est définie comme suit : • persistance d'une infection active à CMV, définie par une une ADNémie persistant pendant plus de 21 jours sous traitement antiviral bien conduit • et/ou augmentation de la charge virale de plus de 0.5 log par semaine sous traitement antiviral, • et/ou absence de réponse clinique à l'administration d'un traitement antiviral adéquat (posologie et voie d'administration correcte) appréciée par le clinicien.
TAILLE D'ETUDE	Pour estimer une valeur prédictive négative du test QuantiFERON®-CMV de 90% avec une précision de 5% et un risque alpha bilatéral de 5%, et en faisant l'hypothèse d'une absence de reconstitution immune (QuantiFERON®-CMV

	négatif) chez 30% des patients, il est nécessaire d'analyser 417 patients. En prenant en compte un nombre de 10% de patient non évaluables, il est nécessaire d'inclure 460 patients dans l'étude.
NOMBRE PREVU DE CENTRES	28 centres
DUREE DE LA RECHERCHE	Durée de la période d'inclusion : 2 ans Durée de participation du patient : 1 an Durée totale de la recherche : 3 ans
ANALYSE STATISTIQUE DES DONNEES	Les variables quantitatives seront décrites selon moyenne ± écart type ou médiane, intervalle interquartile et extrêmes. Les variables qualitatives seront décrites par les effectifs, pourcentages et intervalles de confiance à 95% calculés selon la méthode exacte.
RETOMBEES ATTENDUES	L'utilisation d'un test simple de mesure de la réponse immunitaire cellulaire au CMV chez les transplantés rénaux pour prédire le risque d'infection à CMV pourrait permettre une individualisation des stratégies pré-emptive et prophylactique de l'infection à CMV et ainsi limiter les conséquences sur le greffon d'infections à CMV constituées, les effets secondaires des traitements antiviraux ainsi que les conséquences sur la greffe d'une diminution de l'immunosuppression rendue nécessaire lors de la survenue de neutropénie induite par les antiviraux.

2. JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE

2.1.1. SUR LA PATHOLOGIE

L'infection à cytomégalovirus (CMV) est observée chez plus de 30% des receveurs d'organes avec une morbidité élevée. Par ailleurs, en l'absence de prophylaxie, 75% des transplantés D+R- (donneur CMV séropositif ; receveur CMV séronégatif), 55%, D+R+ et 25% des D-R+ développent une infection à CMV. Le nombre de molécules antivirales disponibles est réduit et leurs effets secondaires notables (neutropénie, toxicité rénale) conduisent à un arrêt prématuré du traitement ou à l'utilisation de doses réduites qui favorisent la non réponse au traitement et l'émergence de résistance. De plus en cas de neutropénie, il existe un risque accru de rejet secondaire à la diminution du traitement immunosuppresseur rendu nécessaire par l'atteinte hématologique.

Une utilisation raisonnée de ces molécules est donc nécessaire avec comme questions essentielles aujourd'hui la durée optimale de la prophylaxie primaire et celle du traitement prophylactique des rechutes en cas d'infection déclarée à CMV.

2.1.2. SUR LES STRATEGIES DE REFERENCE

Le CMV est un Herpesvirus qui infecte entre 50 et 85% de la population adulte. Il demeure une cause majeure de morbidité et de mortalité chez les patients immunodéprimés comme les transplantés d'organes solides. L'infection à CMV est observée chez plus de 30% des receveurs d'organes et est associée à une morbidité élevée (maladie à CMV, rejet de greffe et augmentation du nombre des infections bactériennes et virales) (Mazeron MC, 2008). Par ailleurs, en l'absence de prophylaxie 75% des transplantés D+R-, 55%, D+R+ et 25% des D-R+ développent une infection à CMV. L'utilisation d'une prophylaxie anti-CMV ou d'un traitement anticipé (préemptif) dès l'apparition d'une réplication virale, améliore le pronostic à court terme et probablement à long terme (Legendre C, 2008). Toutefois, le nombre de molécules disponibles est réduit et leurs effets secondaires notables. Les neutropénies dues au ganciclovir ou sa prodrogue le valganciclovir (Brum S, 2008 ; Rerolle 2007), la toxicité rénale associée à l'utilisation du foscarnet ou du cidofovir, augmentent la morbidité et peuvent conduire à l'arrêt prématuré du traitement ou à l'utilisation de doses réduites, favorisant la non réponse au traitement et l'émergence de résistance (Boutolleau D, 2009 ; Hantz S, 2010). Cette situation pourrait également entraîner un risque accru de rejet aigu lié à la fréquente diminution du traitement immunosuppresseur en cas de neutropénie. Une utilisation raisonnée de ces molécules est donc nécessaire en particulier pour le valganciclovir, la plus administrée en prophylaxie et en traitement.

La prise en charge des sujets R+ est plus sujette à débat. Certains préconisent un traitement prophylactique de trois mois, ce d'autant plus que le patient a reçu une induction par anticorps antilymphocytaires déplétants. D'autres privilégient une approche pré-emptive où le traitement est débuté lorsqu'il existe des signes biologiques de réplication virale.

Il serait évident d'observer des bénéfices associés à un traitement prophylactique de 3 mois en termes de baisse de rejets de greffons et de maladies associées au CMV, par rapport à un traitement préemptif, chez certains patients R+. Toutefois, ce bénéfice doit être mis en perspective par rapport au risque accru de neutropénie et de la toxicité associée aux traitements antiviraux administrés. La réponse virologique ne permet pas à elle seule de prédire le risque de rechute, ou de non réponse au traitement pas plus que le risque d'émergence de résistance. Il est vraisemblable que l'immunité à médiation cellulaire (IMC) joue un rôle important dans l'efficacité des traitements et doit être analysée conjointement avec la réponse virologique des antiviraux.

L'IMC est connue pour être plus importante que l'immunité humorale dans le contrôle de l'infection à CMV. L'infection à CMV suscite une forte réponse cellulaire T CD4 + et CD8+ (Crough T, 2009). Les réponses CD8+ spécifiques efficaces sont dirigées contre de multiples antigènes du CMV, dont les protéines pp65 protéine majeure du tégument viral, des protéines très précoces régulatrices IE-1, IE-2, pp50, la glycoprotéine B majeure d'enveloppe, ainsi que d'autres antigènes viraux. La réponse CD4+ joue aussi un rôle important dans la promotion de l'amorçage, de l'expansion et l'entretien des cellules CD8+ (Crough T, 2009). De nombreuses études ont démontré que les réponses T CD4+ et CD8+ spécifiques du CMV sont à la fois responsables du contrôle de la réplication du CMV chez les receveurs de greffe d'organes solides et chez les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques (Radha RS, 2005 ; Gratama JW, 2001 ; Sester M, 2001 ; Egli A, 2008).

En particulier, une corrélation entre la fréquence des cellules CD4+ et CD8+ spécifiques du CMV sécrétrices d'interféron-gamma (IFNγ) et une protection contre une infection à CMV après transplantation a été établie par de nombreux investigateurs (Bunde T, 2005, Sester M, 2001). Dans ce contexte, une étude récente a montré une corrélation entre le déclin de la réponse CD4+ et CD8+ sécrétrice d'IFNγ et la virémie chez des patients ayant reçu des cellules souches hématopoïétiques (Eid AJ, 2009). Une analyse longitudinale des réponses immunitaires chez les receveurs d'organes solides illustre clairement que les patients qui n'avaient pas montré des signes de recrudescence de l'infection virale ou une réactivation asymptomatique ont des niveaux stables d'IFNγ exprimé par les cellules CD8+ spécifiques (Crough T, 2007). En revanche, les transplantés qui ont connu des réactivations symptomatiques avaient des niveaux fluctuant d'IFNγ exprimé par les cellules CD8+ spécifiques. Dans une étude réalisée chez les greffés rénaux par Mattes et al. (Mattes FM, 2008), une altération fonctionnelle des cellules T CD8+ sécrétrices d'IFNγ a été associée à un risque accru dans la progression vers la virémie (> 200 copies de génome / ml). Dans une étude réalisée par Bunde et al. sur des transplantés rénaux et pulmonaires (Bunde T, 2005), des fréquences plus élevées des cellules T CD8+ sécrétrices d'IFNγ spécifiques de IE1 mais pas de pp65 corrélaient avec une protection contre la maladie à CMV. Ainsi, ces études démontrent une corrélation entre la capacité des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques du CMV du sang périphérique à sécréter l'IFNγ et la protection contre une pathogenèse associée au CMV. Une étude récente portant sur 30 transplantés de reins séropositifs (CMV R+) et séronégatifs (CMV R-) avant greffe ayant reçu un traitement prophylactique de 3 mois avec le valganciclovir, montre que la réponse T sécrétrice d'IFNγ est significativement associée à

l'infection à CMV et le diabète chez les receveurs séronégatifs (Eid AJ, 2009). Cette association n'est pas retrouvée chez les receveurs séropositifs. Toutefois, il faut noter que cette étude a été réalisée chez un nombre réduit de patients. La mesure individuelle de l'IMC pourrait donc être un prédiseur utile du risque d'une infection à CMV ou de maladie après la prophylaxie et pourrait faire bénéficier les patients présentant une faible IMC d'une durée de prophylaxie plus longue.

2.1.3. SUR LES STRATEGIES A L'ETUDE

Les méthodes actuelles explorant l'immunité cellulaire (ELISpot, cytométrie de flux, test tétramérique) sont complexes, non standardisées et doivent être réalisées immédiatement après le prélèvement. Par ailleurs, la plupart des essais qui ont évalué l'immunité cellulaire (IMC) ont surtout porté sur les réponses CTL (Cytotoxic T lymphocytes) spécifiques de la phosphoprotéine pp65 ou de l'IE1. Etant donné que les réponses des cellules T CD8+ spécifiques du CMV ont des réactivités à de multiples antigènes du CMV, la mesure de l'IMC limitée à une seule protéine, en utilisant des épitopes, peut ne pas donner de résultats adéquats. **Le test QuantiFERON®-CMV (Cellectis, Australie) est le premier test qui permet la surveillance diagnostique en routine de la réponse T. C'est un test standardisé et rapide qui mesure l'IMC spécifique du CMV en mesurant par Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) la quantité de l'IFNγ sécrétée dans le plasma, en réponse à une stimulation avec des épitopes bien définis de plusieurs protéines du CMV incluant la gB, l'IE-1, la pp65 et la pp50, qui sont spécifiques des molécules HLA de classe I.** Le prétraitement du prélèvement est extrêmement simple et le plasma peut être conservé congelé pour un dosage différé de l'interféron. Le principe de ce test est validé et utilisé pour le diagnostic de la tuberculose, mais les études mesurant la réponse T au cours de transplantation en utilisant le kit QuantiFERON®-CMV restent encore limitées. Walker et al. ont utilisé ce test pour évaluer l'IMC chez 25 patients transplantés. L'ensemble des patients séronégatifs ont eu une production d'IFNγ indétectable (<0,1 UI / ml) et tous les patients séropositifs avaient des niveaux détectables d'IFNγ. Cette étude a montré que cette méthode avait une spécificité similaire à l'ELISpot pour certains épitopes du CMV et une meilleure sensibilité pour d'autres épitopes. Toutefois, aucune évaluation en matière de risque de la maladie à CMV n'a été réalisée. Dans une autre étude réalisée chez des transplantés de poumons par Westall et al. (Westall GP, 2008), une diminution de la réponse IFNγ des cellules T périphériques mesurée par le test QuantiFERON®-CMV précède la réactivation de l'infection dans le greffon. Dans cette étude, le test ne semble pas avoir clairement une valeur prédictive positive. Une autre étude a récemment été réalisée au Canada sur 108 transplantés d'organe solide, avec un suivi court (6 mois) et ses résultats ont montré que l'absence ou la détection d'une réponse IFNγ à la fin de la prophylaxie est corrélée avec une protection contre l'apparition ultérieure d'une maladie à CMV symptomatique (Kumar D, 2009). Le test QuantiFERON®-CMV en tant que témoin de la réponse cellulaire T pourrait donc apporter des éléments cruciaux pour la prédiction d'une réactivation ou d'une rechute d'une infection à CMV et guider la durée de prophylaxie ou la thérapeutique pour une adaptation individuelle des traitements. **L'ensemble de ces publications a conduit à recommander son utilisation en routine pour la surveillance des infections à**

CMV après transplantation (Kotton et al., 2010).

La plupart de ces études ont été réalisées sur un petit nombre de patients, avec des types de transplantation divers et essentiellement sur des patients D+R- où le traitement prophylactique d'une durée de 6 mois est maintenant admis. Dans la population R+, l'utilisation du test QuantiFERON®-CMV pour individualiser le traitement anti CMV paraît particulièrement séduisante : cela permettrait d'éviter les infections sévères inhérentes à la stratégie préemptive et diminuer ainsi le risque neutropénique associé au maintien d'un traitement prophylactique non indispensable si l'IMC est reconstituée. Nous avons donc souhaité appliquer les recommandations internationales dans la population bien ciblée et homogène des receveurs de rein CMV séropositifs (R+), et étudier la valeur prédictive de ce test pour prédire les non réponses au traitement et les rechutes de l'infection à CMV dans cette population.

2.2. HYPOTHESES DE LA RECHERCHE

Le but de ce travail est d'analyser la capacité du test QuantiFERON®-CMV à prédire le risque d'infection à CMV chez le receveur R+.

2.3. JUSTIFICATION DES CHOIX METHODOLOGIQUES

Le choix des patients R+ est justifié par le manque de consensus sur leur prise en charge concernant la stratégie anti-CMV.

Ce travail sera effectué dans une population homogène de transplantés rénaux car le risque d'infection à CMV est différent selon les types de transplantation d'organe. Le risque d'infection à CMV étant considéré comme très élevé après induction par anticorps déplétants, ces patients seront exclus de l'étude initiale. Il est de plus probable que ces patients aient une reconstitution immune beaucoup plus tardive nécessitant un suivi à des temps différents de ceux des patients sans induction initiale ou avec une induction par anti R-IL2.

2.4. RAPPORT BENEFICE / RISQUE

Les résultats du test QuantiFERON®-CMV ne seront pas rendus en temps réel, le bénéfice lié à la mise en place du test n'est pas un bénéfice individuel immédiat. Toutefois, la mise en place d'un algorithme incluant le test QuantiFERON®-CMV représente, si ce test est validé, un bénéfice pour les futurs patients : la prise en charge individualisée du risque CMV permet d'éviter les infections sévères inhérentes à la stratégie préemptive et de diminuer le risque neutropénique associé au maintien d'un traitement prophylactique non indispensable si l'immunité cellulaire est reconstituée.
Il existe également un bénéfice individuel direct pour les patients inclus lié à la mise à disposition, en routine, des recherches de résistance aux antiviraux et des dosages de ganciclovir en cas de non réponse au traitement, afin d'adapter au mieux la thérapeutique.

Le risque lié au protocole est celui des prélèvements sanguins de routine dans le cadre desquels se fera la collection biologique. Il n'y a donc pas de risque supplémentaire lié au protocole.

2.5. RETOMBEES ATTENDUES

L'utilisation d'un test simple de mesure de la réponse immunitaire cellulaire au CMV chez les transplantés rénaux pour prédire le risque d'infection à CMV pourrait permettre une individualisation des stratégies pré-emptive et prophylactique de l'infection à CMV et ainsi limiter les conséquences sur le greffon d'infections à CMV constituées, les effets secondaires des traitements antiviraux ainsi que les conséquences sur la greffe d'une diminution de l'immunosuppression rendue nécessaire lors de la survenue de neutropénie induite par les antiviraux.

3. OBJECTIFS

3.1. OBJECTIF PRINCIPAL

Estimer, chez le patient transplanté rénal R+, les valeurs prédictives de l'infection à CMV du test QuantiFERON®-CMV durant la première année de greffe.

3.2. OBJECTIFS SECONDAIRES

- Estimer, chez le patient transplanté rénal R+, la valeur prédictive du test QuantiFERON®-CMV de non réponse au traitement de l'infection à CMV durant la première année de greffe.
- Estimer, chez le patient transplanté rénal R+, le rôle respectif des facteurs virologiques et immunologiques dans la non-réponse au traitement de l'infection à CMV durant la première année de greffe.

4. CONCEPTION DE LA RECHERCHE

Etude observationnelle descriptive longitudinale, multicentrique, nationale.

5. CRITERES D'ÉLIGIBILITE

5.1. CRITERES D'INCLUSION

- Sujet majeur,
- Receveur de greffe rénale
- Immunisé contre le CMV (R+)
- Patients affiliés à un régime de sécurité sociale
- Non opposition à l'utilisation des données cliniques et biologiques.

5.2. CRITERES DE NON INCLUSION

- Sujet receveur de greffe rénale dont le traitement d'induction comprend des anticorps antilymphocytaires
- Signes cliniques d'infection virale active
- Contre-indication à la transplantation.

5.3. MODALITES D'IDENTIFICATION DES PARTICIPANTS

- La coordinatrice clinique du projet sera **le Pr. Marie ESSIG**, du service de néphrologie-dialyse-transplantation du CHU de Limoges. Les réunions des responsables cliniques de chaque centre de l'étude seront organisées au cours de trois réunions annuelles ou visio /tel/ conférences.
- La coordinatrice virologique du projet sera **le Pr Sophie ALAIN**.
- Un virologue et un clinicien de chaque centre sera impliqué dans la mise en œuvre de la surveillance clinique et virologique des patients (se référer à la liste des investigateurs en annexe).
- Le CIC de Limoges (**Dr Bruno FRANCOIS**) coordonnera l'ensemble de l'étude, assurera la logistique (suivi du calendrier des inclusions, contrôle des envois de tube QuantiFERON® dans les centres, rapatriement des échantillons biologiques vers Limoges) et recueillera, en lien avec les différents services de transplantation, les informations cliniques des patients inclus, les données biologiques et cliniques de suivi.

Le recueil de données sera effectué par mise à disposition des centres d'un cahier de recueil (CRF) électronique. La création des CRF sera prise en charge au titre du PHRC national Orphavic (2010) en raison de l'interconnexion étroite entre les deux études.

Le laboratoire de Virologie de Limoges sera en charge des examens virologiques et immunologiques (QuantiFERON®-CMV) et des recherches de résistances aux antiviraux en cas de non-réponse au traitement.

6. STRATEGIES/PROCEDURES DE LA RECHERCHE

➢ **Stratégie de suivi de l'infection à CMV**

ADNémie (PCR-temps réel) mesurée :

- au minimum une fois dans les 15 jours avant la greffe (J0) pour éliminer une infection en cours au moment de la greffe ;
- puis 1 fois par mois pendant 6 mois ;
- puis 1 fois / 2 mois jusqu'à M12. Les centres sont autorisés à effectuer des surveillances plus rapprochées selon leurs habitudes locales.

➢ **Stratégie de suivi de l'IMC**

Test QuantiFERON®-CMV réalisé :

- avant la greffe (J0) ;
- puis 1 fois par mois pendant 6 mois ;
- puis 1 fois / 2 mois jusqu'à M12.

Les échantillons destinés à la collection des sérums pour QuantiFERON®-CMV subiront le traitement préanalytique dans le laboratoire de virologie du centre investigateur et les sérums pour mesure de production d'interféron seront conservés à -80°C, collectés de façon groupée par le transporteur de l'étude et analysés au laboratoire de virologie de Limoges.

➢ **Stratégie de traitement de l'infection à CMV :**

Selon les recommandations actuelles (Transplantation 2010, American Journal of Transplantation, 2010). Traitement par dose efficace curative (traitement préemptif ou curatif).

➢ **Stratégie de surveillance après l'infection à CMV :**

ADNémie hebdomadaire sous traitement et jusqu'à obtention de deux PCR consécutives négatives permettant l'arrêt du traitement curatif.

NB : l'ADNémie est la détection du génome viral dans le sang périphérique. La recherche est effectuée par PCR en temps réel, idéalement sur sang total. La sensibilité des méthodes utilisées étant variable, on considèrera comme positif tout échantillon détecté de façon répétée sur deux prélèvements différents.

➢ **En cas de non réponse au traitement**, une résistance aux antiviraux sera recherchée par envoi de prélèvements au laboratoire CNR référent (recherche effectuée gratuitement par le CNR) et un dosage résiduel de ganciclovir pourra être effectué (examen effectué gratuitement par le CNR) afin de contrôler l'ajustement posologique.

Les échantillons collectés pour le test QuantiFERON®-CMV seront analysés rétrospectivement, à l'exception des cas de non réponse au traitement. En effet, les examens virologiques et pharmacologiques de surveillance sont rendus en temps réel dans le cadre du suivi thérapeutique normal du patient.

En cas de non réponse au traitement antiviral, les résultats du test Quantiferon pourront donc être rendus en temps réel, afin de ne perdre aucune information potentiellement utile à la prise en charge du patient.

7. CRITERES D'EVALUATION

7.1. CRITERE D'EVALUATION PRINCIPAL

Le critère de jugement principal est le nombre d'infection active à CMV définie par une ADNémie positive confirmée sur un deuxième prélèvement idéalement à une semaine d'intervalle.

7.2. CRITERES D'EVALUATION SECONDAIRES

Le critère de jugement secondaire est la non réponse au traitement définie comme suit :

- persistance d'une infection active à CMV, définie par une ADNémie positive persistant pendant plus de 21 jours sous traitement antiviral bien conduit,
- et/ou augmentation de la charge virale de plus de 0.5 log par semaine sous traitement antiviral,
- et/ou absence de réponse clinique à l'administration d'un traitement antiviral adéquat (posologie et voie d'administration correcte) appréciée par le clinicien.

8. DEROULEMENT DE LA RECHERCHE

8.1. CALENDRIER DE LA RECHERCHE

- Début des inclusions : dès l'obtention des autorisations règlementaires
- Durée de la période d'inclusion : 2 ans
- Durée de participation de chaque patient : 1 an
- Durée totale de l'étude : 3 ans.

8.2. TABLEAU RECAPITULATIF DU SUIVI PARTICIPANT

	Pré inclusion J0	Inclusion J0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M8	M10	M12
Information, non-opposition	✓										
Examen clinique [1]		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
PCR CMV [2]		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
QuantiFERON®-CMV [3]		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

(1) examen clinique : il s'agit de celui habituellement réalisé pour tout patient transplanté rénal.
(2) PCR CMV : un tube de sang de 7 ml sera prélevé
(3) Test QuantiFERON®-CMV : 3 tubes de 1 ml de sang chacun seront prélevés

8.3. VISITE DE PRE-INCLUSION

La visite de pré-inclusion est assurée par le médecin participant à l'étude. Du fait des contraintes de la transplantation rénale, la visite de pré-inclusion a lieu le même jour que la visite d'inclusion. Avant tout examen lié à la recherche, l'investigateur recueille la non-opposition libre, éclairée et écrite du patient.

INFORMATION DES PERSONNES CONCERNEES

Lors de la visite de pré-inclusion et avant tout examen lié à la recherche, le médecin propose au patient de participer à cette recherche et l'informe :

- de l'objectif, la nature des contraintes,
- du traitement informatisé des données le concernant qui seront recueillies au cours de cette recherche et lui précise également ses droits d'accès, d'opposition et de rectification à ces données,

- de la conservation à des fins scientifiques de ses prélèvements à l'issue de la recherche et recueille sa non-opposition (**annexe 3**).

Au cours de cette visite, le médecin vérifie également les critères d'éligibilité. Si la personne est d'accord pour participer, il donne oralement son accord. Dans le cas où l'accord de participation est recueilli auprès du représentant, le patient sera informé dès que possible et son accord de participation lui sera demandé pour la poursuite éventuelle de cette recherche et pour l'utilisation des données qui le concernent et qui sont recueillies dans le cadre de cette recherche. Si le patient refuse de participer à cette étude, le médecin remplit et signe le formulaire de non opposition (annexe 3).

8.4. VISITE D'INCLUSION

L'examen clinique est celui habituellement effectué avant toute transplantation rénale. Il s'assure que le patient ne présente pas de signes cliniques d'infection active ni de contre-indication à la transplantation.
Au cours de cette visite seront prélevés :

- Un tube de 7 ml de sang sur EDTA pour la PCR CMV
- Trois tubes de 1 ml du test QuantiFERON®-CMV

8.5. VISITES DE SUIVI

Huit visites de suivi sont prévues dans l'étude. Ces visites doivent correspondre à des visites du suivi habituel des patients transplantés rénaux dans les centres participant à l'étude. L'examen clinique s'assure en particulier que le patient ne présente pas des signes cliniques d'infection.
Un tube de 7 ml de sang sur EDTA pour la PCR CMV sera prélevé à chaque visite. Cette PCR fait partie du suivi habituel du patient transplanté rénal et ne représente donc pas un surcoût.
Trois tubes de 1 ml pour le test QuantiFERON®-CMV (3 tubes de 1 ml) seront prélevés également à chaque visite : M1, M2, M3, M4, M5, M6, M8, M10.

8.6. VISITE DE FIN DE LA RECHERCHE

La visite de fin de recherche correspond à la visite M12. Elle comprend un examen clinique selon les modalités habituelles de surveillance des patients transplantés, une PCR CMV et un test QuantiFERON®-CMV.

8.7. REGLES D'ARRET DE LA RECHERCHE

Cette étude étant de type observationnel, il n'est pas prévu de règles d'arrêt de la recherche en dehors du retrait de participation du patient.
Les patients inclus dans cette étude peuvent participer simultanément à d'autres recherches en dehors de celles portant sur l'infection à CMV.

8.8. COLLECTION D'ECHANTILLONS BIOLOGIQUES

La constitution de cette collection biologique sera hébergée au sein de la collection déjà existante DC2008-604 agréée par le Ministère de la recherche et de l'enseignement supérieur.

Cette collection d'échantillons biologiques est sur le site du CNR CMV au laboratoire de virologie du CHU de Limoges (responsable : Pr Sophie Alain).

Les thèmes de recherche de cette collection concernés par le protocole proposé sont :

1. contribuer à recueillir des données épidémiologiques concernant la place des infections à cytomégalovirus dans les différentes pathologies
2. contribuer à la mise au point de techniques innovantes de diagnostic et d'épidémiologie et à leur diffusion
3. étudier les supports génétiques des résistances du cytomégalovirus aux antiviraux et élaborer des recommandations quant à la prise en charge des patients infectés.

Modalités de prélèvement et de conservation :

Deux tubes de 500 µl de sang total seront aliquotés et conservés à -80°C à chaque mesure de charge virale. Le plasma pour mesure de l'interféron sera également conservé. Sur ces échantillons pourront être effectuées des analyses de gènes régulant la réponse immunitaire anti-CMV, des analyses virologiques, et des analyses de gènes régulant le métabolisme des antiviraux au niveau cellulaire. Aucune analyse génétique identifiante ne sera effectuée sur ces prélèvements.

9. GESTION DES ÉVÉNEMENTS INDÉSIRABLES ET DES FAITS NOUVEAUX

Aucune procédure de gestion des évènements indésirables graves n'est imposée par la recherche. Cependant, la déclaration des effets graves des médicaments (au centre régional de pharmacovigilance) ou des dispositifs médicaux (au correspondant local de matériovigilance) est obligatoire pour tout médecin (ou autre professionnel de santé concerné), aussi bien dans le contexte de cette recherche qu'en dehors.

10. ASPECTS STATISTIQUES

10.1. CALCUL DE LA TAILLE D'ETUDE

Etude de type observationnelle, descriptive et analytique.
Pour estimer une valeur prédictive négative d'infection à CMV du test QuantiFERON®-CMV de 90% avec une précision de 5% et un risque alpha bilatéral de 5%, et en faisant l'hypothèse d'une absence de reconstitution immune (QuantiFERON®-CMV négatif) chez 30% des patients, il est nécessaire d'analyser 417 patients. En prenant en compte un nombre de 10% de patient non évaluables, il est nécessaire d'inclure 460 patients dans l'étude.

Le recrutement sera assuré par les centres participant habituellement activement aux études du CNR CMV. Ainsi, tous les centres participant à l'étude actuelle Orphavic ont été contactés. Le nombre de patients a été calculé en fonction des possibilités de recrutement annoncées par ces centres, et a été validé par rapport aux taux d'inclusion dans les études précédemment menées par le CNR CMV. Le nombre de transplantations rénales en France est d'environ 2 000 par an.

10.2. METHODES STATISTIQUES EMPLOYEES

Les analyses statistiques seront réalisées par l'Unité Fonctionnelle de Recherche Clinique et de Biostatistique (UFRCB) du CHU de Limoges au moyen du logiciel SAS® V 9.1.3 (SAS Institute Cary, NC).
Les analyses seront conduites et présentées selon les recommandations STROBE (The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology). Le degré de significativité retenu pour l'ensemble des analyses sera fixé à 0,05.

Analyses descriptives
Les variables quantitatives seront décrites selon moyenne ± écart type ou médiane, intervalle interquartile et extrêmes. Les variables qualitatives seront décrites par les effectifs, pourcentages et intervalles de confiance à 95% calculés selon la méthode exacte.

Analyse principale
Les valeurs prédictives de l'infection à CMV du test QuantiFERON®-CMV sont calculées à partir des valeurs de sensibilité et de spécificité du test.

Analyses secondaires

➢ Les valeurs prédictives de non–réponse au traitement durant la première année de greffe du test QuantiFERON®-CMV sont calculées à partir des valeurs de sensibilité et de spécificité du test.

➢ L'analyse de la survenue d'une infection à CMV fera appel à une analyse de type Kaplan-Meier. La date d'origine sera la date de la greffe. Les évènements, infection à CMV, seront étudiés. La médiane de survie sera estimée pour chaque analyse ainsi que son intervalle de confiance à 95% par méthode exacte. Les facteurs pronostiques seront recherchés par une analyse bivariée par comparaison des courbes de survie par test du Log-rank. Une analyse multivariée pourra être réalisée par modèle de Cox. Dans ce cas, les variables pronostiques significatives et celles ayant un p <0,25 en bivarié seront entrées dans le modèle initial, qui sera simplifié en pas à pas descendant. A chaque étape sera enlevée la variable la moins significative et une variation des coefficients sera recherchée dans le modèle simplifié. On obtiendra ainsi un modèle final où l'on recherchera les interactions pertinentes deux à deux. L'adéquation de ce modèle aux données sera testée par vérification de l'hypothèse de proportionnalité des risques.

Analyses complémentaires

➢ Les comparaisons de répartition d'effectifs (croisement de 2 variables catégorielles à 2 modalités ou plus) seront réalisées au moyen du test du Chi2 ou exact de Fisher en fonction des effectifs théoriques.

➢ Les comparaisons de moyennes (croisement d'une variable continue et d'une variable catégorielle à 2 modalités ou plus) seront réalisées par le test t de Student (2 modalités) ou analyse de variance (plus de 2 modalités). En cas d'absence de normalité des variables (testée par test de Shapiro-Wilk ou Kolmogorov-Smirnov), des tests non paramétriques de comparaison de moyennes seront utilisés : test de Mann Withney ou Test de Kruskal Wallis.

➢ Une analyse bi puis multivariée reposant sur un modèle de régression logistique sera menée afin de déterminer le rôle respectif des facteurs virologiques et immunologiques dans la non-réponse au traitement de l'infection à CMV durant la première année de greffe : les variables présentant un degré de significativité inférieur à 0,25 en analyse bivariée seront intégrées dans le modèle multivarié initial. Celui-ci sera simplifié par méthode pas à pas descendante selon Hosmer et Lemeshow. Le modèle multivarié final permettra de présenter les variables indépendamment associées à la non-réponse au traitement de l'infection à CMV et les interactions pertinentes entre ces variables seront recherchées.

11. DROITS D'ACCES AUX DONNEES ET DOCUMENTS SOURCE

11.1. ACCES AUX DONNEES

Le gestionnaire est chargé d'obtenir l'accord de l'ensemble des parties impliquées dans la recherche afin de garantir l'accès direct à tous les lieux de déroulement de la recherche, aux données sources, aux documents sources et aux rapports dans un but de contrôle de qualité et d'audit.

Les personnes qui dirigent et surveillent la recherche mettront à disposition les documents et données individuelles strictement nécessaires au suivi, au contrôle de qualité et à l'audit de la recherche, à la disposition des personnes ayant un accès à ces documents conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur.

11.2. DONNEES SOURCES

Tout document ou objet original permettant de prouver l'existence ou l'exactitude d'une donnée ou d'un fait enregistrés au cours de la recherche est défini comme document source. Les données sources sont le dossier médical et l'original des dosages biologiques.

11.3. CONFIDENTIALITE DES DONNEES

Conformément aux dispositions législatives en vigueur, les personnes ayant un accès direct aux données sources prendront toutes les précautions nécessaires en vue d'assurer la confidentialité des informations relatives aux recherches, aux personnes qui s'y prêtent et notamment en ce qui concerne leur identité ainsi qu'aux résultats obtenus. Ces personnes, au même titre que les personnes qui dirigent et surveillent la recherche, sont soumises au secret professionnel.

Pendant la recherche ou à son issue, les données recueillies sur les personnes qui s'y prêtent et transmises au gestionnaire par les personnes qui dirigent et surveillent la recherche (ou tous autres intervenants spécialisés) seront codifiées. Elles ne doivent en aucun cas faire apparaître en clair les noms des personnes concernées ni leur adresse.

Modalités de codification des sujets : première lettre du nom et du prénom du sujet accompagnées d'un numéro codé propre à la recherche indiquant l'ordre d'inclusion des sujets.

Le gestionnaire s'assurera que chaque personne qui se prête à la recherche a été informée de l'accès aux données individuelles la concernant et strictement nécessaires au contrôle de qualité de la recherche.

12. CONTROLE ET ASSURANCE DE LA QUALITE

12.1. CONSIGNES POUR LE RECUEIL DES DONNEES

Toutes les informations requises par le protocole doivent être consignées sur les cahiers d'observation et une explication doit être apportée pour chaque donnée manquante. Les données devront être recueillies au fur et à mesure qu'elles sont obtenues, et transcrites dans ces cahiers de façon nette et lisible.

Un cahier de recueil électronique sera accessible à chaque centre via un lien internet vers Clinsight. Ce lien sera accessible via le site du CNR (**cnr-cytomegalovirus.fr)**. Le remplissage et la consultation des données recueillies seront régis par un code utilisateur assurant la confidentialité. Les centres ne souhaitant pas utiliser le CRF rentreront les données sur papier et celles-ci seront rentrées sur CRF par le technicien de recherche clinique rattaché au CIC de Limoges.

Les données erronées relevées sur les cahiers d'observation papier seront clairement barrées et les nouvelles données seront copiées, à côté de l'information barrée, accompagnées des initiales, de la date et éventuellement d'une justification par la personne qui dirige et surveille la recherche ou la personne autorisée qui aura fait la correction.

12.2. SUIVI DE LA RECHERCHE

Le suivi de la recherche sera assuré par un **technicien de recherche clinique rattaché au CIC**. Il sera chargé, auprès de la personne qui dirige et surveille la recherche, de :

- la logistique et la surveillance de la recherche,
- l'établissement des rapports concernant son état d'avancement,
- la vérification de la mise à jour de la base de données (demande d'informations complémentaires, corrections,…),
- l'envoi des prélèvements,

Il travaillera conformément aux procédures opératoires standardisées, en collaboration avec l'attaché de recherche clinique délégué par le gestionnaire.

12.3. CONTROLE DE QUALITE

Un attaché de recherche clinique mandaté par le gestionnaire visite de façon régulière chaque centre, lors de la mise en place de la recherche, une ou plusieurs fois en cours de recherche selon le rythme des inclusions et en fin de recherche. Lors de ces visites, les éléments suivants seront revus :

- respect du protocole de la recherche,
- qualité des données recueillies dans le cahier d'observation : exactitude, données manquantes, cohérence des données avec les documents sources (dossiers médicaux, carnets de rendez-vous, originaux des résultats de laboratoire, etc,…).

Toute visite fera l'objet d'un rapport de monitorage par compte-rendu écrit.

12.4. GESTION DES DONNEES

Les données de chaque centre sont centralisées à Limoges et ne pourront être exploitées qu'avec l'autorisation du centre gestionnaire. Les données globales sont exploitées par les investigateurs principaux (coordonnateur virologique et clinique) de l'étude. Toute exploitation de données globales doit être soumise à leur autorisation.

Les données sont validées conformément au plan de data management défini conjointement entre le médecin qui dirige et surveille la recherche et l'UFRCB (méthodologiste, data manager et statisticien). Les logiciels utilisés sont : ACCES© et SAS®.

Le processus de gel/dégel des données est réalisé conformément à la procédure mise en place à l'UFRCB.

L'ensemble des données est sauvegardé chaque soir, avec conservation pendant 4 semaines, puis archivé mensuellement.

12.5. AUDIT ET INSPECTION

Un audit peut être réalisé à tout moment par des personnes mandatées par le gestionnaire et indépendantes des responsables de la recherche. Il a pour objectif de s'assurer de la qualité de la recherche, de la validité de ses résultats et du respect de la loi et des règlementations en vigueur.

Les personnes qui dirigent et surveillent la recherche acceptent de se conformer aux exigences du gestionnaire et à l'autorité compétente en ce qui concerne un audit ou une inspection de la recherche.

L'audit pourra s'appliquer à tous les stades de la recherche, du développement du protocole à la publication des résultats et au classement des données utilisées ou produites dans le cadre de la recherche.

13. CONSIDERATIONS ETHIQUES ET REGLEMENTAIRES

13.1. CONFORMITE AUX TEXTES DE REFERENCE

Le gestionnaire et la personne qui dirige et surveille la recherche s'engagent à ce que cette recherche soit réalisée en conformité avec la déclaration d'Helsinki (qui peut être retrouvée dans sa version intégrale sur le site http ://www.wma.net/f/policy/b3.htm).

Les données enregistrées à l'occasion de cette recherche font l'objet d'un traitement informatisé à l'UFRCB dans le respect de la loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés modifiée par la loi 2004-801 du 6 août 2004.

L'UFRCB adressera une demande d'avis au Comité Consultatif sur le Traitement de l'Information en matière de Recherche dans le domaine de la Santé (CCTIRS) et une demande d'autorisation à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL).

Le gestionnaire adressera une demande d'avis auprès du Comité de Protection des Personnes du SUD-OUEST et OUTRE MER IV.

La collection d'échantillons biologiques réalisée dans le cadre de cette recherche a été déclarée à l'autorité compétente. Après la recherche, la conservation de la collection d'échantillons biologiques sera déclarée au ministre chargé de la recherche et au directeur de l'Agence Régionale d'Hospitalisation (et soumise au CPP pour avis si changement de finalité de recherche).

13.2. AMENDEMENT AU PROTOCOLE

Toute modification substantielle fait l'objet d'un amendement écrit qui est soumis au gestionnaire et au Centre de Méthodologie et de Gestion des données, le cas échéant.

Tous les amendements au protocole doivent être portés à la connaissance de tous les professionnels de santé qui participent à la recherche et qui s'engagent à en respecter le contenu.

14. CONSERVATION DES DOCUMENTS ET DES DONNEES RELATIVES A LA RECHERCHE

Les documents suivants relatifs à cette recherche sont archivés conformément aux Bonnes Pratiques Cliniques :

- Par les médecins, pour une durée de 15 ans suivant la fin de la recherche :
  - Le protocole et les amendements éventuels au protocole
  - Les cahiers d'observation
  - Les dossiers source des participants
  - La feuille de recueil de non-opposition sur la conservation et l'utilisation d'échantillons biologiques à finalité scientifique
  - Tous les autres documents et courriers relatifs à la recherche.

Tous ces documents sont sous la responsabilité du médecin pendant la durée réglementaire d'archivage.

- Par le gestionnaire, pour une durée de 15 ans suivant la fin de la recherche :
  - Le protocole et les amendements éventuels au protocole
  - L'original des cahiers d'observation
  - Tous les autres documents et courriers relatifs à la recherche.

Tous ces documents sont sous la responsabilité du gestionnaire pendant la durée réglementaire d'archivage.

Aucun déplacement ou destruction ne pourra être effectué sans l'accord du gestionnaire. Au terme de la durée réglementaire d'archivage, le gestionnaire sera consulté pour destruction. Toutes les données, tous les documents et rapports pourront faire l'objet d'audit ou d'inspection.

15. REGLES RELATIVES A LA PUBLICATION

15.1. COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

L'analyse des données fournies par les centres est réalisée par l'UFRCB. Cette analyse donne lieu à un rapport écrit qui est soumis au gestionnaire.
Toute communication écrite ou orale des résultats de la recherche doit recevoir l'accord préalable de la personne qui dirige et surveille la recherche et, le cas échéant, de tout comité constitué pour la recherche.

La publication des résultats principaux mentionne le nom du gestionnaire (**CHU de Limoges**), de tous les professionnels de santé ayant inclus ou suivi des patients dans la recherche et des membres du(des) comité(s) constitué(s) pour la recherche. Il sera tenu compte des règles internationales d'écriture et de publication (Convention de Vancouver, février 2006).

15.2. COMMUNICATION DES RESULTATS AUX PATIENTS

A leur demande, les participants à la recherche sont informés des résultats globaux de celle-ci.

15.3. CESSION DES DONNEES

Le recueil et la gestion des données sont assurés par le CNR à CMV, le CIC de Limoges et l'UFRCB. Les conditions de cession de tout ou partie de la base de données de la recherche sont décidées par le promoteur de la recherche et font l'objet d'un contrat écrit.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Boutolleau D, Deback C, Bressollette-Bodin C, Varnous S, Dhedin N, Barrou B, Vernant JP, Gandjbakhch I, Imbert-Marcille BM, Agut H.** 2009. Resistance pattern of cytomegalovirus (CMV) after oral valganciclovir therapy in transplant recipients at high-risk for CMV infection. Antiviral Res 81(2):174-179.
- **Brum S, Nolasco F, Sousa J, Ferreira A, Possante M, Pinto JR, Barroso E, Santos JR.** 2008. Leukopenia in kidney transplant patients with the association of valganciclovir and mycophenolate mofetil. Transplant Proc 40(3):752-754.
- **Bunde T, Kirchner A, Hoffmeister B, Habedank D, Hetzer R, Cherepnev G, Proesch S, Reinke P, Volk HD, Lehmkuhl H, Kern F.** 2005. Protection from cytomegalovirus after transplantation is correlated with immediate early 1-specific CD8 T cells**.** J Exp Med.;201(7):1031-6. Epub 2005 Mar 28.
- **Crough T, Fazou C, Weiss J, Campbell S, Davenport MP, Bell SC, Galbraith A, McNeil K, Khanna R.** 2007. Symptomatic and asymptomatic viral recrudescence in solid-organ transplant recipients and its relationship with the antigen-specific CD8(+) T-cell response. J Virol.;81(20):11538-42.
- **Egli A, Binet I, Binggeli S, Jäger C, Dumoulin A, Schaub S, Steiger J, Sester U, Sester M, Hirsch HH.** 2008. Cytomegalovirus-specific T-cell responses and viral replication in kidney transplant recipients. J Transl Med.;6:29.
- **Eid AJ, Brown RA, Arthurs SK, Lahr BD, Eckel-Passow JE, Larson TS, Razonable RR. 2009.** A prospective longitudinal analysis of cytomegalovirus (CMV)-specific CD4+ and CD8+ T cells in kidney allograft recipients at risk of CMV infection. Transpl Int.*Epub ahead of print*
- **Eid AJ, Brown RA, Hogan WJ, Lahr BD, Eckel-Passow JE, Litzow MR, Razonable RR. 2009.** Kinetics of interferon-gamma producing cytomegalovirus (CMV)-specific CD4+ and CD8+ T lymphocytes and the risk of subsequent CMV viremia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Transpl Infect Dis.;11(6):519-2**8**
- **Gratama JW, van Esser JW, Lamers CH, Tournay C, Löwenberg B, Bolhuis RL, Cornelissen JJ.** 2001. Tetramer-based quantification of cytomegalovirus (CMV)-specific CD8+ T lymphocytes in T-cell-depleted stem cell grafts and after transplantation may identify patients at risk for progressive CMV infection. Blood.;98(5):1358-64.
- **Hantz S, Garnier-Geoffroy F, Mazeron MC, Garrigue I, Merville P, Mengelle C, Rostaing L, Saint Marcoux F, Essig M, Rerolle JP, Cotin S, Germi R, Pillet S, Lebranchu Y, Turlure P, Alain S; French CMV Resistance Survey Study Group**. 2010. Drug-resistant cytomegalovirus in transplant recipients: a French cohort study. J Antimicrob Chemother. 2010 Dec ;65(12) :2628-40.
- **Humar A, Lebranchu Y, Vincenti F, Punch J, Abramowicz D, Blumberg E, Hauser I, Limaye A, Ives J, Pluck N, Peeters P**. 2009. The IMPACT Study: Valganciclovir Prophylaxis for until 200 Days Post-Transplant in High Risk Kidney Recipients Substantially Reduces the Incidence of CMV Disease. American Transplant Congress, Boston 2009, abstract 201**.**
- **Kotton CN.** Management of cytomegalovirus infection in solid organ transplantation. Nat Rev Nephrol ;6 :711-21.
- **Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.** International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. Transplantation ;89 :779-95.
- **Kumar D, Chernenko S, Moussa G, Cobos I, Manuel O, Preiksaitis J, Venkataraman S, Humar A**. 2009. Cell-mediated immunity to predict cytomegalovirus disease in high-risk solid organ transplant recipients. Am J Transplant.;9(5):1214-22.
- **Mattes FM, Vargas A, Kopycinski J, Hainsworth EG, Sweny P, Nebbia G, Bazeos A, Lowdell M, Klenerman P, Phillips RE, Griffiths PD, Emery VC. 2008.** Functional impairment of cytomegalovirus specific CD8 T cells predicts high-level replication after renal transplantation. Am J Transplant.;8(5):990-9. Epub 2008 Mar 4.
- **Mazeron M, Alain S, Leruez-Ville M, Schnepf N.** 2008. Les infections à cytomégalovirus. Cytomegalovirus infections. Encyclopédie Médico-Chirurgicale. 2008 ed. Paris.
- **Radha R, Jordan S, Puliyanda D, Bunnapradist S, Petrosyan A, Amet N, Toyoda M.** 2005. Cellular immune responses to cytomegalovirus in renal transplant recipients**.** Am J Transplant.;5(1):110-7.

- **Rerolle JP, Szelag JC, Le Meur Y.** 2007. Unexpected rate of severe leucopenia with the association of mycophenolate mofetil and valganciclovir in kidney transplant recipients. Nephrol Dial Transplant 22(2):671-672**Crough T, Khanna R.** 2009. Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. Clin Microbiol Rev.;22(1):76-98
- **Sester M, Sester U, Gärtner B, Heine G, Girndt M, Mueller-Lantzsch N, Meyerhans A, Köhler H.** 2001. Levels of virus-specific CD4 T cells correlate with cytomegalovirus control and predict virus-induced disease after renal transplantation.Transplantation. 71(9):1287-94.
- **Walker S, Fazou C, Crough T, Holdsworth R, Kiely P, Veale M, Bell S, Gailbraith A, McNeil K, Jones S, Khanna R. 2007.** Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8+ T-cell responses using QuantiFERON-CMV. Transpl Infect Dis.;9(2):165-70.
- **Westall GP, Mifsud NA, Kotsimbos T**. 2008. Linking CMV serostatus to episodes of CMV reactivation following lung transplantation by measuring CMV-specific CD8+ T-cell immunity. Am J Transplant.;8(8):1749-54**.**

ANNEXES

ANNEXE 1 : LISTE DES PROFESSIONNELS DE SANTE PARTICIPANT A LA RECHERCHE

ANNEXE 2 : NOTE D'INFORMATION

ANNEXE 3 : FORMULAIRE D'OPPOSITION – COLLECTION BIOLOGIQUE

ANNEXE 4 : SCHEMA DE L'ETUDE

ANNEXE 5 : PROTOCOLE DE REALISATION DE LA BIOTHEQUE (PLASMATHEQUE / SEROTHEQUE / CELLULOTHEQUE)

ANNEXE 6 : MODE D'EMPLOI DU QUANTIFERON CMV

ANNEXE 1 : LISTE DES PROFESSIONNELS DE SANTE PARTICIPANT A LA RECHERCHE

Région	Etablissement	Service	Investigateur
Grand Sud Ouest	**CHU de LIMOGES** Hôpital Dupuytren 2 Avenue Martin Luther King 87042 LIMOGES CEDEX	Bactériologie – **Virologie** – Hygiène	**Pr Sophie ALAIN**
		Néphrologie	**Pr Marie ESSIG** **Dr Jean-Philippe REROLLE**
	CHU de BORDEAUX Hôpital Pellegrin Place Amélie Raba-Léon 33076 BORDEAUX Cedex	**Virologie**	**Dr Isabelle GARRIGUE**
	CHU de CLERMONT FERRAND Hôpital Gabriel Monpied - 58 rue Montalembert - 63000 CLERMONT FERRAND	**Virologie**	**Dr Christine ARCHIMBAUD**
	CHU de POITIERS Cité Hospitalière de la Milétrie - BP 577- 2, rue de la Miléterie 86021 POITIERS Cedex	**Virologie**	**Dr Agnès BEBY-DEFAUX**
	CHU de MONTPELLIER Hôpital Saint Eloi - 80 av. A. Fliche - 34295 MONTPELLIER Cedex 5	**Virologie**	**Dr Vincent FOULONGNE**
Ouest	**CHU de BREST** Hôpital Morvan 29609 BREST Cedex	**Virologie**	**Dr Sophie VALLET**
	CHU de NANTES Hôtel Dieu - Place Alexis Ricordeau 44093 NANTES Cedex 1	**Virologie**	**Dr Cécile BRESSOLETTE**
	CHU d'ANGERS Hôtel Dieu - 4 rue Larrey 49933 ANGERS Cedex 9	Bactériologie - **Virologie**	**Dr Alexandra DUCANCELLE**
	CHU de RENNES Hôpital Pontchaillou - 2 rue Henri le Guilloux - 35033 RENNES Cedex 9	Bactériologie – **Virologie**	**Dr Gisèle LAGATHU**
	CHU de TOURS Hôpital Bretonneau 2, bvd Tonnellé 37044 TOURS Cedex	**Virologie**	**Dr Catherine GAUDY**
	CHU de CAEN Hôpital Clemenceau - Av. Georges Clemenceau - 14033 CAEN Cedex	**Virologie**	**Dr Stéphanie GOUARIN**

	CHU de GRENOBLE Hôpital Albert Michallon Avenue du maquis du Grésivaudan BP 217 38043 GRENOBLE Cedex 09	**Virologie**	**Dr Raphaëlle GERMI**
Grand Sud	**CHU de SAINT ETIENNE** Hôpital Nord 42055 SAINT ETIENNE Cedex 2	**Virologie**	**Dr Sylvie PILLET**
	CHU de LYON Centre de biologie et de pathologie EST, 59 boulevard Pinel 69677 BRON Cedex	**Virologie**	**Dr Florence MORFIN-SHERPA**
	Hôpital de la Croix Rousse 103, grande rue de la Croix Rousse 69314 LYON Cedex 04	**Virologie**	**Pr Patrice ANDRE**
	CHU de NANCY Hôpital d'Adultes Rue du Morvan 54511 VANDOEUVRE LES NANCY	**Bactériologie - Virologie**	**Dr Evelyne SCHVOERER**
Est	**CHU de DIJON** 1 Boulevard Jeanne d'ARC BP 77908 21079 DIJON	**Virologie**	**Dr Jean Baptiste BOUR**
	CHU de BESANCON Hôpital Saint Jacques – 2 place Saint Jacques - 25030 BESANCON Cedex	**Virologie**	**Dr Georges HERBEIN**
	CHU de STRASBOURG UF3441 - 3, rue Koeberlé - 67000	**Virologie**	**Dr Samira FAFI-KREMER**
	CHU de REIMS Hôpital Robert Debré Avenue du Général Koenig 51092 REIMS Cedex	**Virologie**	**Dr Nicolas LEVEQUE**
Nord	**CHU de LILLE** Hôpital Calmette 59037 LILLE Cedex	**Virologie**	**Dr Anny DEWILDE**
	CHU d'AMIENS Hôpital Sud Avenue René Laënnec 80054 AMIENS Cedex	**Virologie**	**Dr Sandrine GAUDIO CASTELAIN**
Ile de France	**Hôpital FOCH** 40 rue Worth 92150 SURESNE	**Virologie**	**Dr Jérôme GRAVISSE**
	AP-HP **Hôpital SAINT-LOUIS** 1 avenue Claude Vellefaux 75475 PARIS Cedex 10	**Virologie**	**Dr Marie Christine MAZERON**

	AP-HP **Hôpital Necker – Enfants Malades** 149 rue de Sèvres 75743 PARIS Cedex 15	**Virologie**	**Dr Marianne** **LERUEZ - VILLE**
	AP-HP **Hôpital européen Georges-Pompidou** 20, rue Leblanc 75908 PARIS Cedex 15	**Virologie**	**Dr Ali SI-MOHAMED**

ANNEXE 2 : NOTE D'INFORMATION

NOTE D'INFORMATION

Evaluation du risque d'infection à CMV du sujet transplanté rénal R+ selon l'immunité cellulaire analysée par le test Quantiféron-CMV®

QUANTIC-R+ – CODE I10 002

Gestionnaire de la recherche : CHU de Limoges – 2 Avenue Martin Luther King – 87042 Limoges Cedex

Personne qui dirige et surveille la recherche : Pr Sophie ALAIN
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène - Centre National de Référence des Cytomégalovirus - CHU de Limoges - 2 avenue Martin Luther King - 87042 Limoges Cedex - Tel : 05 55 05 67 28 / 67 24 - sophie.alain@unilim.fr

Madame, Monsieur,

Votre médecin vous propose de participer à une étude observationnelle dont le CHU de Limoges est le gestionnaire. Avant de prendre une décision, il est important que vous lisiez attentivement ces pages qui vous apporteront les informations nécessaires concernant les différents aspects de cette cohorte. N'hésitez pas à poser toutes les questions que vous jugerez utiles à votre médecin.

Votre participation est entièrement volontaire. Si vous ne désirez pas prendre part à cette étude, vous continuerez à bénéficier de la meilleure prise en charge médicale possible, conformément aux connaissances actuelles.

Pourquoi cette étude?

Suite à une greffe, les patients peuvent développer une infection virale à cytomégalovirus (CMV). Ce virus peut engendrer des complications graves chez le patient transplanté. Après transplantation, l'infection augmente le risque de dysfonctionnement du greffon et de rejet. Des traitements antiviraux peuvent être administrés pour empêcher cela et, à la fin du traitement, l'infection guérit le plus souvent mais elle peut rechuter ou résister au traitement.

Les réponses immunitaires contre le CMV sont déterminantes pour la guérison de l'infection, mais les tests permettant de l'apprécier sont complexes et coûteux. Un nouveau test, le QuantiFERON®-CMV, permet de suivre cette réponse immunitaire mais la valeur du résultat qui prédit une infection ou sa rechute doit être déterminée au préalable.

Quel est l'objectif de cette recherche?

Dans cette étude, nous vous proposons de nous aider à déterminer la valeur du test QuantiFERON®-CMV pour prédire la survenue ou la rechute d'une infection à CMV.

Comment va se dérouler cette recherche?

Cette recherche débute au moment de la greffe. Un prélèvement de sang pour test QuantiFERON®-CMV est systématiquement effectué avant la greffe puis chaque mois pendant 6 mois puis tous les deux mois durant les six mois suivants.
Des prélèvements de sang seront conservés pour des analyses ultérieures.

Qui peut participer ?

Vous pouvez participer à cette étude si vous êtes majeur, transplanté rénal ayant déjà été au contact du virus (« séropositif ») avant la greffe.

Que vous demandera-t-on ?

La participation à cette étude ne modifie pas votre prise en charge habituelle. Elle vous permet de bénéficier d'une surveillance régulière de la résistance du CMV au traitement. Les dosages des antiviraux seront pratiqués dans le sang. Les résultats rendus pourront être utilisés pour adapter votre traitement antiviral, si cela paraît justifié. Les prélèvements pour le test QuantiFERON®-CMV sont des prélèvements supplémentaires, dont les résultats seront analysés en fin d'étude, et donc ne vous seront pas communiqués.
La durée de cette étude sera de un an pour chaque patient.
Participer à cette étude ne vous empêche pas de participer à une autre étude.

La recherche inclut une collection biologique (sérothèque, DNAthèque,…)

Cette étude fera l'objet d'une collection d'échantillon biologiques anonymisés enregistrée auprès du Ministère. Le responsable de cette collection est le Professeur Sophie Alain, médecin responsable de cette étude. Deux tubes de sang de 0,5 ml chacun et 1 ml de plasma y seront conservés pour chaque patient. La constitution de cette collection biologique sera hébergée au sein de la collection déjà existante DC2008-604 agréée par le Ministère de la recherche et de l'enseignement supérieur. Des recherches ultérieures pourront être effectuées à partir de cette collection tant sur les échantillons biologiques que sur les données cliniques recueillis. Ces recherches ultérieures se feront sur des données totalement anonymées mais dont les objectifs ne peuvent être à ce jour précisés.

Quels sont vos droits ?

Votre médecin doit vous fournir toutes les explications nécessaires concernant cette recherche. Vous pouvez prendre le temps de réfléchir et d'indiquer à votre médecin, lors de votre prochaine visite si vous acceptez ou refusez de participer à cette étude.

Si vous souhaitez ne pas y participer ou vous en retirer à quelque moment que ce soit, et quel que soit le motif, il vous suffit d'exprimer oralement votre opposition auprès de la personne qui vous a proposé de participer à cette recherche. Cette opposition sera simplement tracée dans votre dossier médical afin de ne pas vous réimportuner lors d'une consultation ultérieure. Quelle que soit votre décision, vous continuerez à bénéficier du suivi médical et cela n'affectera en rien votre surveillance future.

Dans le cadre de la recherche à laquelle le CHU de LIMOGES vous propose de participer, un traitement informatique de vos données personnelles va être mis en œuvre pour permettre d'analyser les résultats de la recherche au regard de l'objectif de cette dernière qui vous a été présenté. A cette fin, les données médicales vous concernant et les données relatives à vos habitudes de vie seront transmises au CHU de LIMOGES ou aux personnes ou sociétés agissant pour son compte, en France ou à l'étranger. Ces données seront identifiées par un code et/ou vos initiales. Ces données pourront également, dans des conditions assurant leur confidentialité, être transmises aux autorités de santé françaises ou étrangères et à d'autres entités du CHU de LIMOGES.

Conformément aux dispositions de la loi relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, vous disposez à tout moment d'un droit d'accès et de rectification des données informatisées vous concernant (loi n° 2004-801 du 6 août 2004 modifiant la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés). Vous disposez également d'un droit d'opposition à la transmission des données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées dans le cadre de cette recherche et d'être traitées. Vous pouvez également accéder directement ou par l'intermédiaire du médecin de votre choix à l'ensemble de vos données médicales en application des dispositions de l'article L1111-7 du code de la santé publique. Ces droits s'exercent auprès du médecin qui vous suit dans le cadre de la recherche et qui connaît votre identité.

Conformément à la loi Politique de Santé Publique :
- cette recherche a obtenu un avis favorable du Comité de Protection des Personnes de SUD OUEST et OUTRE MER IV le *12/04/2012*,
- les personnes ayant subi un préjudice après participation à étude sur collection biologique peuvent faire valoir leurs droits auprès des commissions régionales de conciliation et d'indemnisation des accidents médicaux (art L1121-10 et L1142-3 du code de la santé publique),

- lorsque cette recherche sera terminée, vous serez tenus informés personnellement des résultats globaux par votre médecin dès que ceux-ci seront disponibles, si vous le souhaitez (art L1122-1 du code de la santé publique).

S'agissant d'une recherche observationnelle sur collection biologique, un accord oral vous sera demandé pour votre participation mais votre consentement écrit ne sera pas recueilli. Après avoir lu ce document d'information, n'hésitez pas à poser à votre médecin toutes les questions que vous désirez.

Vous pouvez vous opposer à l'utilisation des données médicales personnelles de votre dossier à des fins de recherche, en exprimant votre refus. Si vous exprimez votre refus, vos données médicales ne seront pas utilisées. Bien entendu, vous n'avez pas à expliquer les raisons de ce choix.

Dans l'hypothèse où vous n'avez pas exprimé de refus, et si vos données médicales sont utilisées dans le cadre d'un projet scientifique, elles sont rendues anonymes avant leur utilisation.

Après avoir lu cette note d'information, n'hésitez pas à poser à votre médecin toutes les questions que vous désirez.

Madame, Monsieur, quelle que soit votre décision, nous tenons à vous remercier de l'attention que vous avez portée à la lecture de ce document.

ANNEXE 3 : FORMULAIRE DE NON-OPPOSITION

Constitution d'une sous collection biologique au sein de la collection agréée DC2008-604.
Evaluation du risque d'infection à CMV du sujet transplanté rénal R+ selon l'immunité cellulaire analysée par le test Quantiféron®-CMV

QUANTIC-R+ – CODE I10 002

Gestionnaire de la recherche : CHU de Limoges – 2 Avenue Martin Luther King – 87042 Limoges Cedex

Personne qui dirige et surveille la recherche : Pr Sophie ALAIN
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène - Centre National de Référence des Cytomégalovirus - CHU de Limoges - 2 avenue Martin Luther King - 87042 Limoges Cedex - Tel : 05 55 05 67 28 / 67 24 - sophie.alain@unilim.fr

Ce formulaire n'a pas à être signé par le patient.

Madame, Monsieur,

Nous allons réaliser un prélèvement de sang. Ce prélèvement servira pour la surveillance des infections à cytomégalovirus.
Au cas où le prélèvement n'aurait pas été utilisé en totalité pour établir le diagnostic, nous conserverons l'échantillon restant. Une partie de cet échantillon sera conservée pour une éventuelle utilisation ultérieure dans le cadre de votre traitement.
Une autre partie sera, sauf opposition de votre part, anonymisée et incorporée dans la collection biologique du CNR Cytomégalovirus. Les échantillons seront conservés à des fins de recherche scientifique. Il ne s'agira en aucun cas d'identification génétique. Aucun examen de vos caractéristiques génétiques ne sera réalisé sans votre consentement écrit.

Vous serez informé(e) de tout changement de finalité de la recherche sur les échantillons et vous pourrez vous y opposer.

Le responsable de cette collection sera le Professeur Sophie Alain, médecin responsable de cette étude.

Le responsable de la consultation (Pr/Dr .....), joignable au (n° de tel .....)

Cadre réservé au service

Nom/prénom/identifiant du patient :

Date de délivrance de l'information :

Opposition exprimée : □ oui □ non

Signature du responsable de la consultation /du service :

- 1er feuillet (original) : à conserver à part par la personne qui surveille et dirige la recherche pendant 15 ans dans un lieu sûr fermant à clé.
- 2ème feuillet : à remettre au patient.
- 3ème feuillet : à ranger dans le classeur investigateur, il sera demandé ultérieurement par le gestionnaire

.

ANNEXE 4 : SCHEMA DE L'ETUDE

SCHEMA DE SURVEILLANCE DE LA COHORTE QUANTIC-R+

J0 = APPEL DE GREFFE (bilan sanguin)
INCLUSION

1 tube EDTA 7 ml (PCR CMV → BTQ V)

les 3 tubes de 1 ml du test QUANTIFERON - CMV

Examen clinique

Formulaire de non opposition

↓

VISITES DE SUIVI = M1, M2, M3, M4, M5, M6, M8, M10

1 tube EDTA 7 ml (PCR CMV → BTQ V)

les 3 tubes de 1 ml du test QUANTIFERON – CMV

Examen clinique

↓

M12 = VISITE DE FIN DE RECHERCHE

1 tube EDTA 7 ml (PCR CMV → BTQ V)

les 3 tubes de 1 ml du test QUANTIFERON - CMV

Examen clinique

BTQ = biothèque; V = virologie;

Remarques 1 : le tube EDTA doit être aliquoté : **au moins 4 aliquotes** avec au minimum **2 aliquotes de 500 µl** de sang total à – 80°C.

Remarques 2 : les 3 tubes quantiféron (bouchons gris, rouge et pourpre) doivent être **bien agités** (10 fois assez fermement) juste après le prélèvement.

Les tubes doivent être apportés immédiatement à température ambiante (17° à 25°C) au laboratoire et

Les tubes doivent être **incubés dès réception** en position verticale à 37°C pendant 16 à 24h.

Après incubation, **centrifuger les tubes pendant 15 min** à 2000 g.

Décanter au moins 2 aliquotes de 200 µl de plasma pour chaque tube avec l'identification correspondant au tube mère (utiliser les étiquettes jointes).

Stocker ensuite les tubes **à -80°C** avant envoi ultérieur sur Limoges.

ANNEXE 5 : PROTOCOLE DE REALISATION DE LA BIOTHEQUE (PLASMATHEQUE/SEROTHEQUE/CELLULOTHEQUE)

A- Test QuantiFERON®-CMV

Prélèvement de sang périphérique sur tube EDTA, porté immédiatement au laboratoire du centre investigateur (3x1ml de sang).

Effectué avant greffe (à T0) puis comme indiqué dans le tableau ci dessous. Soient 10 prélèvements de 3 ml de sang (30 ml).

	Pré inclusion J0	**Inclusion J0**	**M1**	**M2**	**M3**	**M4**	**M5**	**M6**	**M8**	**M10**	**M12**
Information, non-opposition	✓										
Examen clinique [1]		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
PCR CMV [2]		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
QuantiFERON®-CMV [3]		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

(1) examen clinique : il s'agit de celui habituellement réalisé avant toute transplantation rénale.
(2) PCR CMV : un tube de sang de 7 ml sera prélevé
(3) Test QuantiFERON®-CMV : 3 tubes de 1 ml de sang chacun seront prélevés

I - Traitement de l'échantillon :

Chaque tube de sang total est incubé entre 16 et 24 heures à 37 °C. Après centrifugation 15 minutes à 2000-3000g, le plasma est décanté et placé dans un tube eppendorf. Le tube sera étiqueté et placé à -80°C en attendant l'envoi vers le laboratoire investigateur (CHU de Limoges).

II - Envoi des échantillons et analyse :

Les tubes de plasma étiquetés sont envoyés dans de la carboglace au laboratoire investigateur (CNR-CMV, Limoges). Ce dernier procèdera à la quantification des taux d'IFNγ dans le sérum par méthode ELISA, après soustraction de la valeur du contrôle négatif. Les échantillons avec un taux d'IFNγ supérieur à 0,35 UI/ml seront considérés comme positifs.

Un test est indéterminé si ce chiffre est inférieur à 0,35 UI/ml et si le contrôle positif (tube avec mitogène) est inférieur à 0,5 UI/ml.

C - Virémie CMV

Au moment de la greffe : prélèvement de 7 ml de sang périphérique sur EDTA effectué pour éliminer une infection en cours au moment de la greffe.

Au cours du suivi du patient, selon les modalités de routine

En conservant une biothèque (deux tubes de 500µl de sang) à -80°C pour la collection biologique aux temps indiqués dans le tableau de suivi.

D - Dosage de ganciclovir

Nécessite un prélèvement de 7 ml de plasma sur EDTA, plasma à décanter et conserver à -20°C en collection biologique

Afin de définir pour chaque patient une courbe d'équilibre du ganciclovir puis suivre les fluctuations du dosage plasmatique associées à la toxicité hématologique et à la suspicion de résistance.

Chez les patients sous prophylaxie à J0 puis J1, S1, S2, S3, S4 (si le traitement se poursuit au-delà de S3)

En cas de neutropénie (recommandé en routine)

Ou d'échappement thérapeutique pour les patients faisant une infection à CMV (recommandé en routine)

Chez les patients faisant une première infection à CMV, qui rejoignent alors l'étude observationnelle ORPHAVIC

L'ensemble des prélèvements mis en collection biologique pour le protocole est colligé dans un cahier de Biothèque.

ANNEXE 6 : MODE D'EMPLOI DU QUANTIFERON CMV

5. ÉCHANTILLONNAGE SANGUIN ET MANIPULATION

QuantiFERON®- CMV utilise les tubes de prélèvement suivants:

1. Contrôle nul (bouchon gris)
2. Antigènes CMV (bouchon rouge)
3. Contrôle mitogène (bouchon pourpre) (optionnel)

Les antigènes ont été séchés sur les parois internes des tubes de prélèvement de sang. Il est donc essentiel de bien mélanger le sang prélevé au contenu du tube. Les tubes doivent ensuite être transférés le plus rapidement possible dans un incubateur à 37°C et au plus tard dans les 16 heures suivant le prélèvement.

Pour obtenir des résultats optimum, suivre les procédures suivantes:

1. Prélever pour chaque sujet par ponction veineuse 1ml de sang directement dans chacun des tubes prévus à cet effet dans le test QuantiFERON®- CMV
   - Comme l'aspiration des 1ml de sang dans le tube est assez lente, maintenir le tube sur l'aiguille pendant 2 à 3 secondes jusqu'à que le tube soit correctement rempli.

     La ligne noire indiquée sur le côté du tube correspond à la quantité de 1ml. Les tubes de prélèvement de sang QuantiFERON®- CMV sont valables pour un volume de sang allant de 0,8 à 1,2ml. Si dans un des tubes le niveau de sang n'est pas proche de la ligne indicatrice de 1ml, il est recommandé de prélever un nouvel échantillon de sang.
   - Si le prélèvement de sang est effectué avec une «aiguille à ailettes ou à papillon», il faut purger la tubulure à l'aide d'un tube non fourni pour s'assurer qu'elle soit remplie de sang avant d'utiliser les tubes QuantiFERON®- CMV.
2. Mélanger le contenu de chaque tube par retournement de 8 à 10 fois ou en secouant le tube pendant 5 secondes **en s'assurant que la surface interne du tube** est bien recouverte de sang.
   - Il est important de bien agiter afin que le sang se mélange complètement avec le contenu du tube.
3. Etiqueter les tubes de manière appropriée.
4. Les tubes doivent ensuite être transférés le plus rapidement possible dans un incubateur à 37°C et au plus tard dans les 16 heures après le prélèvement. Ne pas réfrigérer ou congeler les échantillons de sang.

9

6. NOTICE D'EMPLOI

Première étape – Incubation du sang et recueil du plasma

Matériel fourni

Tubes de prélèvement du sang QuantiFERON®- CMV (se reporter au chapitre 3).

Matériel nécessaire (mais non fourni)

Se reporter au chapitre 3.

Procédure

1. Si le sang n'est pas incubé immédiatement après son prélèvement, l'agitation des **tubes doit être répétée juste avant l'incubation**, conformément aux instructions du chapitre 5.
2. Incuber les tubes **EN POSITION VERTICALE** à 37°C pendant 16 à 24 heures. L'incubateur ne nécessite pas de CO_2 ou d'humidification.
3. Après incubation, les tubes de sang peuvent être conservés à une température comprise entre 2°C et 27°C jusqu'à 3 jours avant d'être centrifugés.
4. Après incubation à 37°C, centrifuger les tubes pendant 15 minutes entre 2000 et 3000 RCF (g). Le gel devra séparer les cellules du plasma. Si ce n'est pas le cas, les tubes doivent être centrifugés une nouvelle fois à une vitesse plus élevée.
   - Il est possible de recueillir le plasma sans centrifugation, cependant une attention plus importante est requise pour récupérer délicatement le plasma sans re-suspendre les cellules.
5. Les échantillons de plasma peuvent être directement transférés dans la plaque ELISA du test QuantiFERON®- CMV surtout lorsque l'on utilise des stations de travail ELISA automatise'es.
6. Les échantillons de plasma peuvent être stockés avant d'effectuer le test ELISA, soit dans les tubes centrifugés ou dans des tubes de conservation du plasma. Si les échantillons doivent être conservés, recueillir par exemple >150 µl dans les puits d'une microplaque ou dans des microtubes adaptés au format de 96 puits, et fermer hermétiquement pour éviter les éclaboussures et l'évaporation.
   - Les échantillons de plasma peuvent être stockés jusqu'à 8 semaines à une température entre 2°C et 8°C ou en dessous de –20°C (de préférence moins de –70°C) pour une période plus longue.

10